Phadia 250

EliA™

Not for use in the USA

Celikey® IgA

FLUOROENZYMEIMMUNOASSAY FOR ANTI TISSUE TRANSGLUTAMINASE ANTIBODIES

POUR DIAGNOSTIC IN VITRO

MODE D'EMPLOI

CONTENU

Les réactifs EliA sont disponibles en conditionnements modulaires. Toutes les informations nécessaires à l'utilisation des tests EliA sont disponibles dans la fiche technique propre à chaque test et dans la fiche technique du contrôle EliA correspondant.

UTILISATION PRÉVUE

Celikey IgA est destiné au dosage quantitatif des anticorps IgA anti-transglutaminase tissulaire (tTG) dans le sérum et le plasma humain. Celikey IgA emploie comme antigène de la transglutaminase tissulaire humaine recombinante, et est utilisé comme aide au diagnostic de la maladie cœliaque.
EliA Celikey IgA utilise la méthode EliA IgA sur l'instrument Phadia 250.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

La maladie cœliaque est une affection chronique dans laquelle l'ingestion de gluten, c'est-à-dire de la gliadine non hydrosoluble du blé et des prolamines du seigle et de l'orge, entraîne une inflammation et des lésions chroniques de la muqueuse de l'intestin grêle.[1] La transglutaminase tissulaire (tTG) a été identifiée comme le principal autoantigène dans la maladie cœliaque.[2] Les anticorps IgA anti-tTG constituent des marqueurs sérologiques très spécifiques de la maladie cœliaque et de la dermatite herpétiforme.[3,4,5] Les anticorps IgG anti-tTG sont moins spécifiques pour ces maladies mais sont des marqueurs utiles pour les patients présentant un déficit en IgA. [6,7]

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les puits EliA Celikey IgA Well sont revêtus d'antigène tTG humain recombinant. Les anticorps éventuellement présents dans l'échantillon du patient se lient aux antigènes correspondants. Après élimination par lavage des anticorps non liés, on ajoute des anticorps dirigés contre les anticorps IgA humains marqués avec une enzyme (conjugué IgA EliA) pour former un complexe anticorps-conjugué. Après incubation, le conjugué non lié est éliminé par lavage et le complexe lié est incubé avec une solution de développement. Après l'arrêt de la réaction, on mesure la fluorescence du produit de la réaction. Plus la valeur de la réponse est élevée, plus il y a d'IgA spécifiques présentes dans l'échantillon. Pour évaluer les résultats du test, les réponses des échantillons de patients sont comparées directement avec les réponses obtenues avec les calibrateurs.

REACTIFS / PRODUITS

Les réactifs EliA sont disponibles en conditionnements modulaires. La réalisation d'un test Celikey IgA EliA nécessite tous les composants du système. Les puits EliA Celikey IgA sont conditionnés dans des tubes emballés dans des pochettes en aluminium scellées contenant un produit dessiccant.

Réactifs spécifiques du test EliA Celikey IgA

EliA Celikey IgA Well (Art. n° 14-5517-01)

Puits Celikey IgA; abréviation: Acy	Revêtus d'antigène tTG humain recombinant	4 tubes (de 12 puits chacun); pour 48 déterminations	Prêts à l'emploi; conserver au sec entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption

EliA Celiac Positive Control 250 (Art. n° 83-1036-01)

Sérum humain dans une solution de tampon phosphate contenant de l'albumine sérique bovine, un détergent et de l'azide de sodium (0,095 %); symbole: pos	Le contrôle multiparamétrique contient des anticorps IgA et IgG dirigés contre tTG et gliadine.	6 flacons à usage unique (0,3 ml chacun) par niveau; quantité suffisante pour 2 déterminations par flacon	Prêts à l'emploi; conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption

Le contrôle EliA Celiac Positive Control 250 est préparé à base d'un pool de sérums humains sélectionnés.

EliA IgG/IgM/IgA Negative Control 250 (Art. n° 83-1037-01)

Sérum humain dans une solution de tampon phosphate contenant de l'albumine sérique bovine, un détergent et de l'azide de sodium (0,095 %); symbole: neg	Le contrôle multiparamétrique contient de sérum humain de donneurs sains.	6 flacons à usage unique (0,3 ml chacun) par niveau; quantité suffisante pour 2 déterminations par flacon	Prêts à l'emploi; conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption

Le contrôle IgG/IgM/IgA Negative Control 250 est préparé à base d'un pool de sérums humains sélectionnés.

Réactifs spécifiques de la méthode EliA (Phadia 250)

EliA Sample Diluent (Art. n° 83-1023-01)

Diluant d'échantillon (jaune); tampon phosphate contenant de l'albumine sérique bovine, un détergent et de l'azide de sodium (0,095 %)	6 flacons (48 ml chacun); quantité suffisante pour ≥ 6 x 180 dilutions	Prêts à l'emploi; conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption

EliA IgA Conjugate 50 (Art. n° 83-1021-01)

Conjugué IgA (bleu);β-galactosidase anti-IgA (anticorps monoclonaux murins) dans un tampon phosphate contenant de l'albumine sérique bovine et de l'azide de sodium (0,06 %): symbole: El-A	6 bouteilles triangulaires (5 ml chacun); quantité suffisante pour 6 x 50 déterminations	Prêts à l'emploi; conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption NE PAS CONGELER NE PAS RÉUTILISER

EliA IgA Conjugate 200 (Art. n° 83-1022-01)

Conjugué IgA (bleu);β-galactosidase anti-IgA (anticorps monoclonaux murins) dans un tampon phosphate contenant de l'albumine sérique bovine et de l'azide de sodium (0,06 %); symbole: El-A	6 bouteilles triangulaires (19 ml chacun); quantité suffisante pour 6 x 200 déterminations	Prêts à l'emploi; conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption NE PAS CONGELER NE PAS RÉUTILISER

EliA IgA Calibrator Strips (Art. n° 83-1019-01)

IgA humaines (0, 0.3, 1.5, 5, 15, 80 µg/l); dans un tampon phosphate contenant de l'albumine sérique bovine, un détergent et de l'azide de sodium (0,095 %)	5 barrettes 6 flacons à usage unique par barrette (0,3 ml chacun); quantité suffisante pour une courbe d'étalonnage (détermination en double)	Prêts à l'emploi; conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption

Fabriqué à base de sérums humains.

EliA IgA Curve Control Strips (Art. n° 83-1020-01)

IgA humaines (5 µg/l); dans un tampon phosphate contenant de l'albumine sérique bovine, un détergent et de l'azide de sodium (0,095 %); symbole: CC-1	5 barettes Chaque barrette contient 6 x 0,3 ml CC-1 (détermination en double)	Prêts à l'emploi; conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption

Fabriqué à base de sérums humains.

EliA IgA Calibrator Well (Art. n°14-5516-01)

Puits de calibration IgA revêtus avec des anticorps monoclonaux murins; abréviation: Acal	4 tubes (de 12 puits chacun); pour 48 déterminations	Prêts à l'emploi; conserver au sec entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption

Réactifs généraux Phadia 250

Development Solution (Art. n° 10-9440-01)

Solution de développement 4-méthylombelliféryl-ß-D-galactoside à 0,01 %, Conservateur à < 0,0010 %	6 flacons (17 ml chacun); quantité suffisante pour 6 x >170 déterminations	Prêts à l'emploi; conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. NE PAS CONGELER

Stop Solution (Art. n° 10-9442-01)

Solution d'arrêt carbonate de sodium à 4 %	6 flacons (119 ml chacun); quantité suffisante pour 6 x >560 déterminations	Prêts à l'emploi; conserver entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption.

Dilution Plates (Art. n° 12-3907-08)

Plaques de microtitration (MicroWell™) de 96 puits de 0,5 ml chacun, polypropylène	60 plaques par conditionnement; suffisant pour 60 x 96 échantillons	Prêts à l'emploi; NE PAS RÉUTILISER

Washing Solution (Art. n° 10-9422-01/10-9202-01)

Pour plus d'information, voir la notice séparée de la solution de lavage.

MISES EN GARDE ET PRECAUTIONS

- Pour usage in vitro uniquement.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de leur date de péremption.
- Il n'est pas recommandé de mélanger des réactifs
- Certains réactifs sont fabriqués à base de composants du sang humain. Les matières premières concernées ont donné des résultats négatifs aux tests immunologiques de recherche de l'antigène de surface de l'hépatite B et des anticorps anti-VIH 1 et 2, et anti-VHC. Toutes les précautions recommandées pour les manipulations des dérivés du sang doivent néanmoins être respectées. Se référer aux recommandations nationales et locales sur les procédures de sécurité dans les laboratoires.

Attention! Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (NaN_3) comme conservateur. L'azide de sodium peut être toxique par ingestion ou absorption par la peau ou les yeux. L'azide de sodium peut réagir avec les conduites en plomb et en cuivre, en formant des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau afin d'éviter l'accumulation d'azides. Veuillez vous reporter aux réglementations locales et nationales. La bouteille de déchets liquides et le container de recueil des ImmunoCAP / puits EliA peuvent être contaminés par du matériel infectieux. Prendre les mesures de sécurité appropriées et porter des gants.

Indication d'instabilité

Le logiciel du système Phadia 250 comporte des limites d'acceptabilité pour la courbe d'étalonnage et le contrôle de courbe. Les puits EliA Celikey IgA Well sont sensibles à l'humidité. Une perte d'activité qui pourrait survenir suite à une manipulation inappropriée peut être détectées avec les contrôles Celiac EliA. Pour plus d'information, voir le guide de l'utilisateur Phadia 250.

APPAREILLAGE

Les réactifs EliA doivent être utilisés avec la version 1.06 ou supérieure du logiciel de l'instrument Phadia 250. L'instrument Phadia 250 effectue toutes les étapes du test.
Se reporter au guide de l'utilisateur Phadia 250 pour toute information relative à la configuration du test, à l'appareillage, au logiciel, etc.

RECUEIL, MANIPULATION ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

La procédure peut être réalisée avec des échantillons de sérum ou de plasma (EDTA, citrate). Cependant, l'utilisation de plasmas héparinés n'est pas recommandée car l'héparine interfère avec le dosage des anticorps anti-tTG. Les échantillons lipémiques, hémolysés ou microbiologiquement contaminés peuvent donner de mauvais résultats et ne devraient pas être utilisés.
Le document CLSI H18-A4 recommande de respecter les conditions de conservation suivantes pour les échantillons :

- Le sérum ou le plasma ne doivent pas rester plus de huit heures à température ambiante.
- Si les dosages ne sont pas effectués dans un délai de huit heures, le sérum ou le plasma doivent être réfrigérés (entre 2°C et 8°C).
- Si les dosages ne sont pas effectués dans un délai de 48 heures, ou si le sérum ou le plasma sont conservés plus de 48 heures, le sérum ou le plasma doivent être congelés à une température inférieure ou égale à -20°C.
  Éviter les congélations et décongélations répétées.

Dilution de l'échantillon

Les échantillons doivent être dilués avec EliA Sample Diluent. Une dilution des échantillons au 1:100 est requise pour le test EliA Celikey IgA. Les échantillons peuvent être dilués manuellement, mais une dilution par l'instrument est recommandée.

PROCÉDURES

Manipulation des puits EliA Celikey IgA Well

Dans la chambre de conservation du Phadia 250, les tubes porteurs sont stables jusqu'à 28 jours. Si vous ne pensez pas les utiliser dans ce délai, les tubes doivent être chargés via le plateau de chargement des Phadia 250, et, pour des raisons de stabilité, doivent être remis dans le sachet contenant le dessicant aussitôt après la série. Parce qu'il est

important de conserver les puits au sec entre 2 et 8 °C, le sachet doit être correctement rescellé. Dans ces conditions, la durée de vie depuis la première ouverture est de 9 mois, à moins que la date de péremption inscrite sur le tube et le sachet ne soit inférieure.

Code spécifique du Lot
Utiliser le lecteur de code barre intégré pour entrer les informations spécifiques du lot de EliA Celikey IgA Well, EliA IgA Calibrator Well et EliA IgA Conjugate. En cas de manipulation manuelle assurez vous d'entrer les caractères inscrits sous le code barre.

Stabilité des réactifs à bord de l'instrument

- **EliA Wells**
  Les tubes EliA Well peuvent être conservés dans l'instrument pendant 28 jours entre 2 et 8 °C ou 24 heures à température ambiante.
- **EliA Calibrator Strips, EliA Curve Control Strips**
  Peuvent être conservés dans l'instrument pendant 28 jours. En cas d'intervalle important entre deux utilisations (>3 jours), il est recommandé de décharger les barrettes de l'instrument et de les conserver entre 2 et 8 °C.
- **EliA Sample Diluent**
  Peut être conservé dans l'instrument pendant 7 jours à température ambiante. Reboucher les bouteilles chaque nuit.
- **EliA Conjugate**
  Peut être conservé dans l'instrument entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. Les réactifs à usage unique et les flacons ouverts ne doivent pas être conservés.
- **Development Solution, Stop Solution**
  Peut être conservé dans l'instrument pour un total de 40h à température ambiante. Peut être utilisé 5 fois pendant la durée de vie et conservé pendant 8 heures à température ambiante à chaque occasion. Reboucher les flacons chaque nuit. Pendant les week-ends ou des intervalles plus longs entre deux utilisations de l'instrument, il est recommandé de conserver les bouteilles entre 2 et 8 °C.
- **Washing Solution**
  La solution préparée peut être conservée dans l'instrument pendant 7 jours à température ambiante. La même bouteille peut être remplie pendant une semaine. Jeter ce qui reste après la dernière série du vendredi et recommencer avec une solution de lavage fraîchement préparée, dans une bouteille nettoyée, le lundi.

Volumes par détermination

Volumes de réactifs par détermination

Calibrateur	90 µl
Conjugué EliA	90 µl
Solution de développement	90 µl
Solution d'arrêt	200 µl

Volumes d'échantillon par détermination

Dilution manuelle:	90 µl d'échantillon dilué
Dilution automatique (1:100):	20 µl d'échantillon non dilué

Les volumes morts spécifiques du tube sont indiqués dans le guide de l'utilisateur de l'instrument Phadia 250.

Volumes de réactifs par 200 déterminations

Solution de lavage	5-7 l*
Solution de rinçage	5-6 l*

* le volume résiduel dépend du nombre d'échantillons et de la méthode de dilution utilisée.

Commentaires sur la procédure

- Jusqu'à 11 déterminations peuvent être effectuées pour un échantillon dilué de manière automatique (1:100).
- Avec la configuration par défaut du logiciel, les échantillons ne sont soumis qu'à une seule détermination.
- La solution de lavage doit être à température ambiante avant utilisation.
- Le premier résultat est disponible après environ 2 heures et les résultats suivants à une minute d'intervalle ensuite. Jusqu'à 5 x 10 échantillons peuvent être chargés et traités en continu.
- L'instrument Phadia 250 procède automatiquement à une incubation à 37 °C.
- Si vous voulez réaliser plus d'un test par patient vous pouvez également utiliser les panels de tests suivants :

Nom abrégé	Description du panel	Tests EliA inclus
pceli	Maladie coeliaque	Celikey IgA, Celikey IgG, Gliadin IgA, Gliadin IgG
pcda	Maladie coeliaque IgA	Celikey IgA, Gliadin IgA
pttg	Anti-transglutaminase	Celikey IgA, Celikey IgG

ETALONNAGE ET MATÉRIEL DE RÉFÉRENCE

La courbe d'étalonnage est obtenue avec les calibrateurs IgA EliA testés en double.
La courbe est mémorisée et les tests ultérieurs sont évalués par rapport à la courbe mémorisée en utilisant uniquement le contrôle de courbe IgA EliA (testé en double). Les calibrateurs IgA sont traçables via une chaîne ininterrompue d'étalonnages à partir de la Préparation Internationale de Référence (IRP) de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) 67/86 pour les immunoglobulines sériques humaines A, G et M.

Une nouvelle courbe d'étalonnage doit être réalisée dans les cas suivants:

- le dernier étalonnage a été effectué il y a plus d'un mois;
- introduction d'un nouveau lot de conjugué IgA EliA;
- le contrôle de courbe IgA EliA se situe en dehors des limites spécifiées (définies dans le logiciel du système Phadia 250).

Il n'y a pas de standards internationaux pour les anti-tTG. Les résultats sont donnés en unités arbitraires EliA U/ml.

CONTRÔLE QUALITÉ

Echantillons de contrôle
Les bonnes pratiques de laboratoire exigent d'inclure des échantillons de contrôle de qualité dans chaque série de tests. Tout matériel utilisé doit être testé de manière répétée afin d'établir des valeurs moyennes et des plages d'acceptabilité.
Des contrôles EliA sont disponibles pour le contrôle de qualité des dosages.

CALCUL ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Présentation des résultats
Le système Phadia 250 mesure les concentrations des IgA spécifiques en µg/l. Le logiciel utilise un facteur de conversion donné par le code spécifique du lot de EliA Well, pour convertir automatiquement tous les résultats en unités finales (unités EliA U/ml, IU/ml ou rapport).

Interprétation des résultats de test
Les plages de résultats (négatif, équivoque, positif) recommandées pour l'évaluation des résultats sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Test	Unité	Négatif	Equivoque	Positif
EliA Celikey IgA	EliA U/ml	< 7	7 - 10	> 10

Selon les bonnes pratiques de laboratoire, chaque laboratoire doit déterminer sa propre plage de valeurs attendues.

LIMITATIONS

Un diagnostic clinique définitif ne peut être basé sur les résultats d'une méthode diagnostique unique; le diagnostic doit être établi par le médecin après évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire. L'utilisation de plasmas héparinés n'est pas recommandée car l'héparine interfère avec le dosage des anticorps anti-tTG.

VALEURS ATTENDUES

La prévalence des anticorps chez les patients avec affection auto-immune varie grandement selon la maladie. La proportion de sérums trouvés positifs dans une population normale pour les anticorps anti-tTG couverts par le test EliA Celikey IgA est inférieure à 1%. Les valeurs attendues varient en fonction de la population testée.

Résultats obtenus chez des sujets en bonne santé

La distribution de la fréquence des autoanticorps a été étudiée sur l'instrument Phadia 100 dans un groupe de sujets apparemment en bonne santé, également distribués pour l'âge et le sexe, en utilisant des sérums prélevés dans une population de type caucasien et obtenus auprès d'une banque de sang. Les résultats sont indiqués dans le tableau ci-dessous.(1)

Test	Unité	Nombre d'échantillons	Valeur moyenne	95 ème percentile	99 ème percentile
EliA Celikey IgA	EliA U/ml	400	<2.7	3.2	7.4

Une étude de comparaison entre les Phadia 100 et 250 a été réalisée à Phadia AB, Uppsala, Suède, avec 36 échantillons de patients, pour évaluer les performances analytiques des deux systèmes.

PERFORMANCES

Gamme de mesure

La gamme de mesure (limite de détection à limite supérieure) pour EliA Celikey IgA va de 0.1 à ≥ 128 EliA U/ml. Aucun effet crochet n'a été observé pour des concentrations jusqu'à 10 fois supérieures à la gamme de mesure.(1)
Seules les valeurs supérieures au seuil de détection (voir tableau) peuvent être considérées comme des résultats valides. La limite supérieure peut varier suite à une conversion, spécifique du lot, des µg/l en valeurs finales. Les résultats supérieurs à la limite supérieure sont rapportés comme “élevé”.
Remarque: suite à des différences de caractéristiques de liaison des anticorps dans les échantillons de patient, tous les sérums ne peuvent pas être dilués de manière linéaire dans la gamme de mesure.

Spécificité

Le test EliA Celikey IgA permet la détermination des anticorps IgA dirigés contre l'antigène tTG tel que décrit dans le paragraphe “Réactifs”.

Precision

Pour la détermination de la précision des dosages, la variabilité a été estimée en testant 3 échantillons au cours de 14 séries avec 3 instruments. L'évaluation statistique a été effectuée par analyse de variance (ANOVA). Les résultats sont indiqués dans le tableau ci-dessous.(2)

Test	Echantillon	Unité	Valeur moyenne	Coefficients de variation(%) Intra série	Inter-séries
EliA Celikey IgA	1	EliA U/ml	11.0	4.8	2.8
	2	EliA U/ml	15.6	4.1	1.6
	3	EliA U/ml	126.1	5.1	4.4

(1) Etudes réalisées à Phadia GmbH, Freiburg, Allemagne
(2) Etudes réalisées à Phadia AB, Uppsala, la Suède

GARANTIE

Les données de performance présentées dans ce document ont été obtenues en utilisant la procédure indiquée. Toute modification du protocole non recommandée par Phadia AB peut affecter les résultats; dans ce cas Phadia AB décline toute garantie expresse, implicite ou établie par la loi, y compris la garantie implicite de qualité commercialisable et d'aptitude à une utilisation. Phadia AB et ses distributeurs agréés ne pourront, dans une telle éventualité, être tenus pour responsables des dommages directs ou consécutifs.

RÉFÉRENCES

1. Mäki M, Collin P (1997) Coeliac disease. Lancet 349, 1755-1759
2. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, et al. (1997) Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nature Med 3, 797-801
3. Sulkanen S, Halttunen T, Laurila A, et al. (1998) Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. Gastroenterology 115, 1322-1328
4. Troncone R, Maurano F, Rossi M, et al. (1999) IgA antibodies to tissue transglutaminase: An effective diagnostic test for celiac disease. J Pediatr 134, 166-171
5. Rose C, Dieterich W, Brocker EB, et al. (1999) Circulating autoantibodies to tissue transglutaminase differentiate patients with dermatitis herpetiformis from these with linear IgA disease. J Am Acad Dermatol 41, 957-961
6. Korponay-Szabó IR, Dahlbom I, Laurila K, et al. (2003) Elevation of IgA antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for coeliac disease in selective IgA deficiency. Gut 52, 1567-1571
7. Agardh D, Borulf S, Lernmark A, Ivarsson SÅ (2003) Tissue transglutaminase immunoglobulin isotypes in children with untreated and treated celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 36, 77-82

LOT Numéro du lot
Risque biologique
Conserver entre 2-8°C
Date de péremption
IVD Pour diagnostic *in vitro*
Pour x déterminations
Consulter les instructions d'utilisation
Fabricant
Ne pas réutiliser dans une seconde série

Phadia AB
Rapsgatan 7P
P.O. Box 6460
751 37 Uppsala
Sweden
Tel: +46-18-16 50 60
Fax: +46-18-14 03 58
Autoimmunity@phadia.com
www.phadia.com

CE

Issued January 2013

© Phadia GmbH, Freiburg, Germany